

УДК 543.422.7:547.455

Ю.Г. Хабаров, Н.Д. Камакина, В.А. Вешняков

Архангельский государственный технический университет

Хабаров Юрий Германович родился в 1950 г., окончил в 1972 г. Архангельский лесотехнический институт, доктор химических наук, профессор кафедры технологии ЦБП Архангельского государственного технического университета. Имеет более 100 печатных трудов в области химической переработки древесины.

E-mail: khabarov@agtu.ru

Камакина Наталья Дмитриевна родилась в 1953 г., окончила в 1975 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат технических наук, доцент кафедры технологии целлюлозно-бумажного производства Архангельского государственного технического университета. Имеет более 50 печатных работ в области переработки сульфитных щелоков.

E-mail: khabarov@agtu.ru



Вешняков Вячеслав Александрович родился в 1984 г., окончил в 2006 г. Архангельский государственный технический университет, аспирант кафедры технологии ЦБП АГТУ. Имеет 12 печатных работ в области химии древесины и аналитической химии.

E-mail: khabarov@agtu.ru



ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕДУЦИРУЮЩИХ САХАРОВ В РАСТВОРАХ

Разработан экспресс-метод фотометрического определения содержания редуцирующих веществ, основанный на измерении уменьшения поглощения медно-щелочного раствора при 670 нм после 3 мин нагревания и позволяющий определять концентрацию редуцирующих веществ в диапазоне 0,5...1,5 мг/мл в пересчете на глюкозу.

Ключевые слова: редуцирующие вещества, углеводы, фотометрия, медно-щелочной раствор, раствор Фелинга, метод Бертрана.

Для количественной характеристики содержания восстанавливающих сахаров используют показатель – содержание редуцирующих веществ (РВ). Обычно РВ определяют в сульфитных щелоках, гидролизатах и предгидролизатах для контроля процесса биохимической переработки их в этиловый спирт и кормовые дрожжи [1]. Кроме того, РВ определяют в гидролизатах, получаемых при анализе лигноцеллюлозных материалов на содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов [4]. В основу методов определения РВ положено взаимодействие так называемого медно-щелочного раствора с сахарами со свободной гликозидной, или восстанавливающей, группой. Медно-щелочной раствор представляет собой водный раствор сульфата меди (II) с сегнетовой солью и гидроксидом натрия. Его обычно готовят непосредственно перед определением, смешивая равные объемы следующих растворов: раствор 1 – сульфат меди (II), раствор 2 – сегнетова соль и гидроксид натрия. В ходе определения происходит восстановление катионов меди (II) до меди (I), сопровождающееся окислением восстанавливающих сахаров. При этом ключе-

вой реакцией является окисление альдегидной группы сахаров до карбоксильной с образованием альдоновых кислот. На самом деле взаимодействие сахаров с медно-щелочным раствором состоит из нескольких сотен реакций, протекающих одновременно. Например, только из глюкозы может образоваться 113 соединений, часть из которых также обладает восстанавливающей способностью [3].

Классическим способом определения РВ является метод Бертрана [5, 6], который осуществляется следующим образом. Анализируемый раствор сахаров смешивают с медно-щелочным раствором, эту реакционную смесь кипятят в течение 3 мин, затем выпавший осадок оксида меди (I) отфильтровывают и растворяют в растворе сульфата железа (III) (сульфата железа (III)-аммония [5]), подкисленном серной кислотой. При этом медь (I) окисляется до меди (II), а железо (III) восстанавливается до железа (II). Количество катионов железа (II) определяют перманганатометрически. Метод Бертрана является достаточно трудоемким и обычно дает значительный разброс между параллельными определениями из-за окисления осадка оксида меди (I) воздухом.

В России большое распространение получил эбулиостатический метод [1, 3] определения РВ. Он исключил недостатки метода Бертрана. В медно-щелочной раствор введена желтая кровяная соль, образующая с медью (I) растворимое бесцветное комплексное соединение. Это позволило исключить стадию фильтрования и последующего растворения осадка оксида меди (I). Контакт кислорода воздуха с медно-щелочным раствором был устранен совмещением проведения реакции и титрования в специальном устройстве – эбулиостате, из которого воздух вытесняется водяным паром. Эбулиостатический метод заключается в титровании медно-щелочного раствора непосредственно анализируемым раствором сахаров. Индикатором при этом служит метиленовый голубой, фиксирующий скачок окислительно-восстановительного потенциала, или момент восстановления всех катионов меди (II) до меди (I). Однако эбулиостатический метод не стал менее трудоемким, так как при его выполнении необходимо проводить ориентировочное титрование, строго выдерживать заданную скорость титрования и другие условия анализа.

Для устранения недостатков определения РВ известными методами был разработан менее трудоемкий фотометрический метод, в котором регистрируется изменение светопоглощения медно-щелочного раствора в результате реакции с анализируемым раствором сахаров.

Экспериментальная часть

Электронные спектры растворов регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-Probe 1650 PC в кварцевых кюветах (толщина рабочего слоя 1 см) относительно дистиллированной воды. Оптическую плотность растворов при 670 нм измеряли на фотоколориметре КФК-2МП в кюветах (толщина рабочего слоя 1 см) относительно дистиллированной воды.

В работе были использованы реактивы следующих квалификаций: D-глюкоза, серная кислота, пентагидрат сульфата меди (II) – ч.; гидроксид натрия, железо-аммонийные квасцы, сахароза – ч.д.а.; желтая кровяная соль, перманганат калия, сегнетова соль – х.ч.; вода – дистиллированная.

Для проведения эксперимента готовили по 500 мл растворов 1 (8,65 г пентагидрата сульфата меди (II) в дистиллированной воде) и 2 (25,00 г сегнетовой соли, 2,00 г желтой кровяной соли и 37,50 г гидроксида натрия в дистиллированной воде). В пробирке смешивали по 2,00 мл растворов 1 и 2 и 2,00 мл анализируемого раствора, содержание РВ в котором находится в диапазоне 0,5...1,5 мг/мл. Затем пробирку

с реакционной смесью нагревали на кипящей водяной бане в течение заданного времени, по истечении которого смесь фотометрировали.

В качестве реальных объектов были использованы производственные сульфитные щелока, отобранные по ходу варки через 30, 60 и 90 мин после выхода на конечную температуру варки, а также гидролизаты, полученные при определении легкогидролизуемых полисахаридов [4] в древесине березы и осины.

Обсуждение результатов

Электронный спектр медно-щелочного раствора имеет полосу поглощения с максимумом при 670 нм (кривая 1, рис. 1). Спектры растворов отдельных компонентов медно-щелочного раствора не имеют полос поглощения в диапазоне длин волн 500 ... 1 000 нм во всех случаях, кроме раствора сульфата меди (II), поглощающего в области 808 ... 810 нм (кривая 3). Голубой цвет раствора сульфата меди (II) обусловлен образованием гидратированного комплекса меди (II). В медно-щелочном растворе катионы меди (II) связываются в прочный виннокислый комплекс, за счет чего полоса поглощения смещается в более коротковолновую область (от 808...810 до 670 нм), придавая раствору характерную синюю окраску.

При нагревании медно-щелочного раствора с раствором глюкозы (1 мг/мл) в течение 3 мин положение полосы поглощения с максимумом при 670 нм осталось неизменным, но уменьшилась ее интенсивность (кривая 2).

Таким образом, в качестве аналитической выбрана длина волны 670 нм, для выделения которой на обычных фотоколориметрах имеются светофильтры.

Реакция окисления сахаров медно-щелочным раствором при комнатной температуре практически не идет, поэтому ее проводили на кипящей водяной бане. В методах Бертрана и эбулиостатическом аналогичные реакции осуществляют также при температуре 100 °С.

Для определения оптимальной продолжительности фотометрическую реакцию проводили в течение заданного интервала времени (0...15 мин) с водными растворами *D*-глюкозы. Дополнительно были поставлены эксперименты с раствором сахарозы, взятой в качестве невосстанавливающего дисахарида, и холостой опыт.

Полученные кинетические зависимости (рис. 2) показывают, что фотометрическая реакция протекает быстро в первые 2 ... 3 мин, затем скорость уменьшения оптической плотности заметно снижается (кривая 3). Нагревание медно-щелочного раствора в отсутствие сахаров показало изменение оптической плотности при 670 нм: в первые 2 мин происходит увеличение поглощения, затем практически линейное уменьшение (кривая 1). Проведение реакции с сахарозой подтвердило отсутствие окислительно-восстановительных процессов медно-щелочного раствора с невосстанавливающими сахарами: кинетическая зависимость (кривая 2) почти полностью совпадает с изменением поглощения при 670 нм самого медно-щелочного раствора при нагревании.

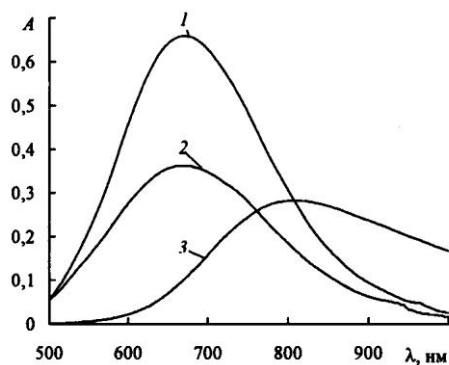


Рис. 1. Электронные спектры поглощения медно-щелочного раствора (1, 2) и раствора сульфата меди (II) (3): 1 – исходный раствор, 2 – после нагревания в течение 3 мин с добавкой 2 мг глюкозы

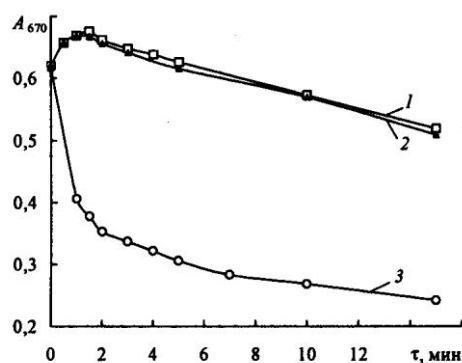


Рис. 2. Кинетические зависимости оптической плотности медно-щелочного раствора при 670 нм (A_{670}) от продолжительности τ проведения реакции (нагревание) без сахаров – холостой опыт (1), с сахарозой (2) и *D*-глюкозой (3)

Выбрана оптимальная продолжительность фотометрической реакции – 3 мин. Дальнейшее увеличение продолжительности реакции существенно не изменяет оптическую плотность при 670 нм. Метод Бертрана предусматривает такую же продолжительность реакции.

Для построения градуировочного графика фотометрические реакции проводили с растворами глюкозы, приготовленными в мерных колбах вместимостью 100 мл из навесок разной массы (от 50 до 150 мг) в дистиллированной воде. После проведения в течение 3 мин фотометрической реакции измеряли оптическую плотность при 670 нм на фотоколориметре КФК-2МП. На основе полученных данных был построен график зависимости оптической плотности при 670 нм от концентрации глюкозы в анализируемом растворе. Уравнение градуировочной зависимости:

$$A_{670} = -0,2946C + 0,6366; R^2 = 0,9996.$$

Стандартное среднеквадратическое отклонение оптической плотности при 670 нм между тремя параллельными определениями не превышало 0,003.

В отличие от стандартных растворов глюкозы, с помощью которых был построен градуировочный график, сульфитные щелока и гидролизаты окрашены и имеют небольшое поглощение при 670 нм. В связи с этим свободный член уравнения прямой градуировочного графика будет иметь различные значения, в зависимости от интенсивности окрашивания анализируемого раствора. Эти различия учитывали проведением холостого опыта, при котором медно-щелочной раствор с добавкой анализируемого раствора не нагревали, а сразу фотометрировали, т.е. измеряли начальную оптическую плотность реакционной смеси при 670 нм. В этом случае уравнение для определения содержания РВ будет выглядеть следующим образом:

$$PB = \frac{A_{\text{кон}} - A_{\text{нач}}}{-0,2946}, \quad (1)$$

где $A_{\text{нач}}$ и $A_{\text{кон}}$ – начальная и конечная оптические плотности реакционной смеси при 670 нм, т.е. до и после проведения реакции;
– 0,2946 – тангенс угла наклона прямой градуировочной зависимости.

При изучении стабильности медно-щелочного раствора в условиях фотометрической реакции было установлено, что поглощение собственно медно-щелочного раствора ($\lambda = 670$ нм) при нагревании в течение 3 мин увеличивается в среднем на 0,012. Медно-щелочные растворы с добавками растворов глюкозы, с помощью которых был построен градуировочный график, имели начальную оптическую плотность при 670 нм в среднем 0,625, а градуировочная зависимость пересекает ось ординат в точке 0,637. Поэтому при расчете величины РВ необходимо учитывать поправку 0,012, связанную с увеличением поглощения при 670 нм самого медно-щелочного раствора при нагревании в течение 3 мин. Тогда уравнение (1) с учетом разбавления и поправки 0,012 принимает вид:

$$PB = R \frac{A_{\text{нач}} - A_{\text{кон}} + 0,012}{0,2946},$$

где R – степень разбавления анализируемого раствора.

В таблице, приведены результаты определения РВ в сульфитных щелоках и гидролизатах методом Бертрана и предлагаемым фотометрическим методом. Каждое определение было проведено дважды, коэффициент вариации не превышал 0,6 %, относительная погрешность, характеризующая расхождение результатов известного и фотометрического методов, составила 1,7 %.

Сравнение результатов определения РВ различными методами

| Объект | Степень разбавления раствора | Оптическая плотность при 670 нм | | Концентрация РВ, мг/мл | | Погрешность (1) относительно (2), % |
|-------------------|------------------------------|---------------------------------|----------|---------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| | | начальная | конечная | Фотометрический метод (1) | По Бертрану (2) | |
| Сульфитный щелок: | | | | | | |
| 1 | 50 | 0,636 | 0,362 | 49,3 | 48,5 | 1,7 |
| 2 | 50 | 0,638 | 0,340 | 52,3 | 52,6 | 0,7 |
| 3 | 66,7 | 0,643 | 0,398 | 57,7 | 58,2 | 0,9 |
| Гидролизат: | | | | | | |
| береза | 2,5 | 0,629 | 0,351 | 2,45 | 2,46 | 0,3 |
| осина | 2,5 | 0,628 | 0,375 | 2,23 | 2,25 | 0,9 |

Таким образом, нами разработан фотометрический экспресс- метод определения РВ, относительная погрешность результатов которого по сравнению с методом Бертрана не превышает 1,7 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Емельянова, И.З. Химико-технический контроль гидролизного производства [Текст] / И.З. Емельянова. – М.: Лесн. пром-сть, 1976. – 322 с.
2. Инструкция по химико-техническому контролю биохимической переработки сульфитных щелоков, предгидролизатов и гидролизатов [Текст]. – Пермь: Звезда, 1982. – 180 с. – (введ. 1 июля 1982 г.).
3. Низовкин, В.К. Эбулиостатический метод определения редуцирующих сахаров [Текст] / В.К. Низовкин, И.З. Емельянова // Журнал прикладной химии. – 1959. – № 11. – С. 2516 – 2521.
4. Оболенская, А.В. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие для вузов [Текст] / А.В. Оболенская [и др.]. – М.: Экология, 1991. – 320 с.
5. Оболенская, А.В. Практические работы по химии древесины и целлюлозы [Текст] / А.В. Оболенская [и др.]. – М.: Лесн. пром-сть, 1965. – 412 с.
6. Bertrand, G. Le dosage des sucres réducteurs [Text] / G. Bertrand // Mémoires presentées a la société chimique. – 1906. – Т. 35. 3 sér. – P. 1285–1299.

Поступила 19.06.08

Yu.G. Khabarov, N.D. Kamakina, V.A. Veshnyakov
Arkhangelsk State Technical University

Photometric Method of Quantitative Determination of Reducing Carbohydrates in Solutions

Express-method of photometric determination of reducing carbohydrates' content based on measuring the absorbance reduction of copper-alkaline solution at 670 nm after three-minute heating and allowing to determine the concentration of reducing carbohydrates within 0,5 ... 1.5 mg/mL converting into glucose.

Keywords: reducing carbohydrates, carbohydrates, photometry, copper-alkaline solution, Feling's solution, Bertrand's method.